蓖麻蚕蛹体高級脂肪酸的紙上层析*

PAPER CHROMATOGRAPHIC ANALYSIS OF HIGHER FATTY ACIDS OF ERI-SILKWORM PUPA

张清剛　馮　慧
CHANG CHING-KAN & FENG HUI
(中国科学院动物研究所)
(*Institute of Zoology, Academia Sinica*)

前　言

昆虫体內高級脂肪酸的分离研究,已有不少学者利用一般化学方法做了許多工作,对进一步了解不同种类昆虫食性和营养的相互关系起了很大作用。这点,在 Gilmour(1961)的著作中已有全面的綜述。但是,由于高級脂肪酸的物理化学性質非常近似,故分离較为困难;而原有分离方法又較繁鎖。自从 Boldingh (1948) 提出并为 Ashley 等人 (1955) 所发展的利用反相紙上层析分离微量高級脂肪酸的方法以后,应用紙譜分离昆虫高級脂肪酸的报到已漸增多(Anders, 1960; Albrecht, 1961; Fawzi 等, 1961)。本文参考近年来有关高級脂肪酸紙上层析的研究成果,提出分离昆虫高級脂肪酸的簡易方法。

材料和方法

(一) 样品的制备　被測材料为实驗室內飼养的青黃品种蓖麻蚕,此蚕由北京农业大学植保系供給。在平均室温 20℃ 条件下,将化蛹一个星期的材料分别雌雄,于 80℃ 烘箱內烤干、研碎,用重蒸乙醚在索氏提取器內浸提約 20 小时(温度为 45—50℃)。所得油样先經皂化处理,分出不皂化物;将皂化物用盐酸酸化,用乙醚提取分离脂肪酸,所得脂肪酸在加热状态下作成脂肪酸鉛盐(别洛杰尔斯基等, 1951)。利用不飽和脂肪酸鉛盐在丙酮溶剂中的可溶性,将不飽和脂肪酸分出;剩余的飽和脂肪酸鉛盐則溶解在氯仿溶剂中,做为层析样品(Ballance 等, 1958)。

为了除去混合脂肪酸中的不飽和酸,除作成上述的脂肪酸鉛盐以事先分离飽和与不飽和酸外,也采用平山修等(1961)提出的下列方法进行分离:即在层析之前,将点于滤紙上的混合样品先經 1% $KMnO_4$ 于 30℃ 恆温箱內浸漬 30 分鈡,然后再用 5% $NaHSO_3$ 的 1*N* HCl 溶液浸漬 5 分鈡,水洗多次,凉干后再按一般方法展开,不飽和酸被除去,只有飽和酸显現。

层析中的标准脂肪酸样品,除了 2 种飽和酸及油酸为純品外,亚油酸和亚麻酸是用亚麻仁油水解后的不飽和酸部分代替。

* 工作期間,承欽俊德教授提供許多宝貴意見并审閱文稿;于延芬同志代为拍摄照片,特此致謝。
(本文于1963年11月1日收到)

（二）层析步驟 本文选用 Whatman 1 号滤紙，裁成30 × 2厘米具有桥形的紙条，滤紙条先經含有 8% 石蜡油的乙醚溶液浸透，并放在干淨滤紙上凉干，滤紙增重約 12%—14%（Ashley 等，1955；Buchanan，1959）。将浓度为 0.04*M* 的标准脂肪酸样品 3—5 微升点滴在桥形滤紙下端的小紙片上，然后将其置于特制的玻璃蛇形架上，放入 35×10×5 厘米的层析缸内（图 1）。流动相曾使用 95%、90% 和 85% 的乙酸（Holman，1958），以上行法展开。

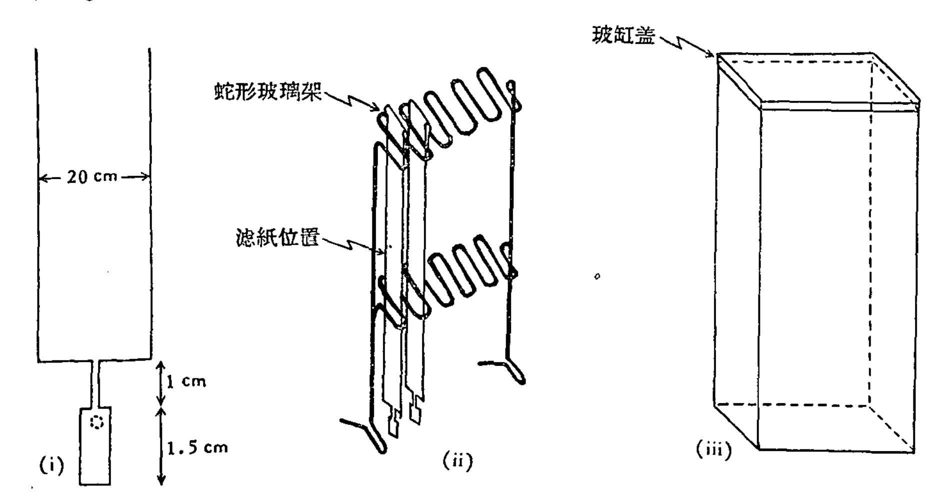


图 1 脂肪酸上行层析仪

(i) 滤紙；(ii) 蛇形玻璃层析架；(iii) 玻缸 (35×10×5 cm)

层析毕，取出层析架，待滤紙凉干后进行显色。将滤紙侵入 1% 醋酸鉛溶液中 1 分鈡，水洗多次，稍干后再浸入 5% 硫化銨溶液中片刻，飽和脂肪酸卽現出黑褐色，不飽和脂肪酸呈棕色。为了显現混合脂肪酸中的不飽和酸，用 0.2% $KMnO_4$ 浸漬 5 分鈡，取出后水洗多次，不飽和脂肪酸卽現出棕黄色，而飽和酸則不显現(平山修等，1961)。

結果和討論

Matthias（1954）曾用特制桥形滤紙上行分离氨基酸，获得清晰結果。从本实驗結果中表明，利用特制桥形滤紙进行分离微量高級脂肪酸是比較满意的。在样品处理和层析过程中，作者参考近年来有关研究資料，結合化学分离方法层析，方法旣簡便迅速，結果也較淸楚。对于脂肪酸的定性研究有一定实用意义。

从对蓖麻蚕雌雄蛹体高級脂肪酸的层析結果中看出，它們均含有硬脂酸（十八碳酸）、棕櫚酸（十六碳酸）、油酸（十八碳一烯酸）、亚油酸（十八碳二烯酸）和亚麻酸（十八碳三烯酸）等五种脂肪酸。此外，可能还含有微量的豆蔻酸（十四碳酸）。本結果与 Anders(1960) 对果蝇和 Fawzi 等人（1961）对蝗虫体內脂肪酸的紙上层析結果相似。其中，蝗虫除了含有上述六种脂肪酸外，还含有紙譜上不易測出的十八碳四烯酸。

由于昆虫种类繁多，食性和生存条件差异甚大，脂肪的脂肪酸組分变化亦較大，但就目前已知多目数种昆虫的脂肪組成而言，絕大多数都含有硬脂酸、棕櫚酸和油酸。至于高等动物所必需的亚油酸，亚麻酸和廿碳四烯酸，在昆虫体內不一定都具有。其中，前二种

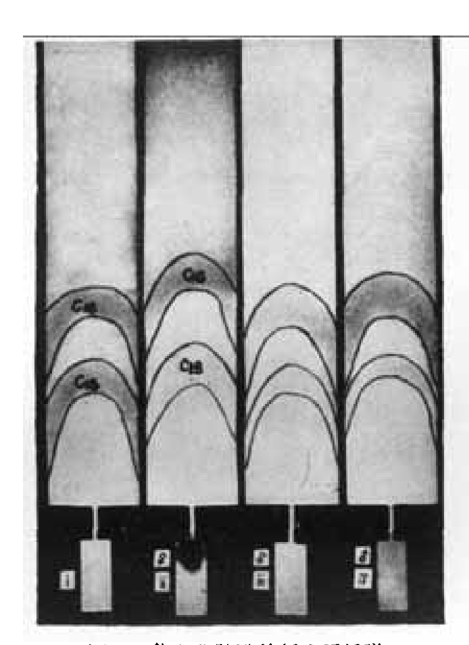


图 2　飽和脂肪酸的紙上层析譜

溶剂系統：90% 乙酸
显 色 剂：1% 醋酸鉛 －5% 硫化銨
(i) 标准棕櫚酸和硬脂酸
(ii) 蓖麻蚕雌蛹脂肪酸經 $KMnO_4$—$NaHSO_3$ 处理后的层析譜
(iii) 蓖麻蚕雌蛹脂肪酸鉛盐的氯仿溶液部分
(iv) 蓖麻蚕雄蛹脂肪酸鉛盐的氯仿溶液部分

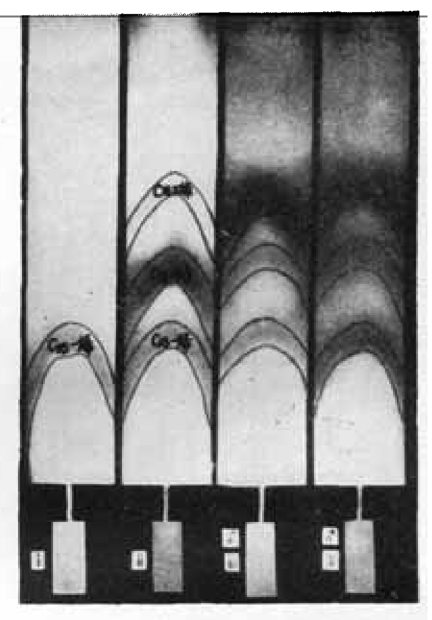


图 3　不飽和脂肪酸的紙上层析譜

溶剂系統：90% 乙酸
显 色 剂：0.2% 高猛酸鉀
(i) 标准油酸
(ii) 亚麻仁油水解样品
(iii) 蓖麻蚕雌蛹脂肪酸鉛盐的丙酮溶液部分
(iv) 蓖麻蚕雄蛹脂肪酸鉛盐的丙酮溶液部分

不飽和酸在部分昆虫中还能見到，后者則实属罕見。关于上述三种常見于昆虫体內的脂肪酸是否为昆虫生存所必需，則还有待于进一步的研究証实。

表 1　蓖麻蚕蛹高級脂肪酸的 R_f 值

脂 肪 酸	R_f 值			
	标 准 样 品	亚 麻 仁 油 (不飽和酸部分)	蓖 麻 蚕 雌 蛹	蓖 麻 蚕 雄 蛹
棕 櫚 酸	0.47		0.46	0.46
硬 脂 酸	0.32		0.31	0.31
油 酸	0.33	0.33	0.33	0.34
亚 油 酸	0.45	0.44	0.46	0.45
亚 麻 酸		0.55	0.56	0.55

溶剂系統：90% 乙酸。
溫　　度：15 ± 0.5℃，展开 18 小时，約走 20 cm。

参　考　文　献

平山修、井上吉之　1961。脂质的色层分析及其生物化学的应用 (2). C_{10}—C_{36} 脂肪酸的紙层析。日本农艺化学会志 **35**：138—41。

A. H. 別洛杰尔斯基等　1951。植物生物化学实驗指导。曹宗巽等譯　1956. 高等教育出版社。

Albrecht, G. 1961. Untersuchungen über die chemische Zusammensetzung einiger Insektenfette. *Z. Vergl.*

Physiol. **44**:487—508.

Anders, G. 1960. Papierchromatographischer Nachweis von höheren, nichtflüchtigen Fettsäuren bei *Drosophila melanogaster*. (Mit. 5 Textabbildungen.) *Rev. Suisse Zool.* **67**:171—83.

Ashley, B. D. & U. Westphal 1955. Separation of small quantities of saturated higher fatty acids by reversed-phase paper chromatography. *Arch. Biochem. Biophys.* **56**:1—10.

Ballance, P. E. & W. M. Crombic 1958. Paper chromatography of saturated and unsaturated fatty acids. *Biochem. J.* **69**:632—40.

Boldingh, J. 1948. Application of partition chromatography to mixtures insoluble in water. *Experientia* **4**:270—71.

Buchanan, M. A. 1959. Paper chromatography of the saturated fatty acids. *Analy. Chem.* **31**:1616—18.

Fawzi, M., Osman, H. & G. H. Schmidt 1961. Analyse der Körpcrfette von imaginalen Wandenheuschrecken der art *Locusta migratoria migratorioides* L. (Orth.). *Biochem. Zeit.* **334**:441—50.

Gilmour, D. 1961. Biochemistry of Insects. Academic Press, Inc., New York and London.

Holman, R. T. 1958. The separation of fatty acids. *Experientia* **14**(4):121—27.

Matthias, W. 1954. *Serienuntersuchungen mit* Hilfe *eineroneuen* Form der Streifenpapierchromatographie. *Naturwissenschafter* **41**:17—8.